



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Observação de *Wasting Syndrome* e diagnóstico de Lentivirose em Pequenos Ruminantes – Que relação?

Diana Margarida da Silva Valente

Coimbra, junho de 2020



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**OBSERVAÇÃO DE *WASTING SYNDROME* E DIAGNÓSTICO DE LENTIVIROSES EM
PEQUENOS RUMINANTES – QUE RELAÇÃO?**

Coimbra, junho de 2020

Diana Margarida da Silva Valente

Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

*Presidente do Júri: Prof. Doutora Liliana
Montezinho*

Arguente: Prof. Doutor Hélder Quintas

Orientador: Prof. Doutor Nuno Carolino

Orientador Interno

Renato Nuno Pimentel Carolino

Coorientador Interno

Elisabete Gomes Martins

Orientador Externo

Carlos Daniel Correia da Cruz
Cruzvet Medicina e Produção Lda.

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente
ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG

Índice Geral

Índice de Figuras	iv
Índice de Quadros	iv
Lista de Abreviaturas	v
Resumo	2
Palavras-chave	2
<i>Abstract</i>	3
<i>Key-words</i>	3
Introdução	4
Materiais e Métodos	5
Resultados	6
Discussão dos resultados.....	10
Conclusões	13
Agradecimentos.....	15
Referências bibliográficas	16
Anexo I.....	19
Anexo II.....	19
Anexo III.....	19
Anexo IV	20

Índice de Figuras

Figura 1 – Metodologia utilizada na seleção da amostra de conveniência.	19
---	----

Índice de Quadros

Quadro 1 – Caracterização dos animais com <i>Wasting Syndrome</i> relativamente às explorações de origem (Anexo II) (Caracterização baseada em Carrozza et al., 2018; Firdaus et al., 2018; Ministério da Agricultura, 2013).	7
Quadro 2 - Caracterização dos animais com <i>Wasting Syndrome</i> (Caracterização baseada em Carrozza et al., 2018; Czopowicz et al., 2017; Firdaus et al., 2018; Minguijón et al., 2015; Singh et al., 2018; Spickler, 2015).	8
Quadro 3 - Classes de Exploração (CN – Cabeças Normais) (Adaptado de Ministério da Agricultura, 2013).	19
Quadro 4 - Equivalência do número de animais em Cabeças Normais (Adaptado de Ministério da Agricultura, 2013).	19
Quadro 5 - Distribuição das raças, de acordo com a espécie, nas explorações em estudo.	19
Quadro 6 - Sinais clínicos identificados nos “animais caso”.	20

Lista de Abreviaturas

Ag – Antigénio

CAEV – Vírus da Artrite-Encefalite Caprina

ELISA – *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay* (ensaio de imunoabsorção enzimática)

OD – *Odd ratios*

OBSERVAÇÃO DE *WASTING SYNDROME* E DIAGNÓSTICO DE LENTIVIROSES – QUE RELAÇÃO?

Diana Valente^a; Carlos Cruz^{a,c}; Elisabete Martins^a; Nuno Carolino^{a,b}

^a Departamento de Ciências Veterinárias, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (dmsvalente@hotmail.com; cdc.cruzvet@gmail.com; ebete.martins@sapo.pt; carolinonuno@hotmail.com)

^b Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P., Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos, Estação Zootécnica Nacional – Polo de Investigação da Fonte Boa, Fonte Boa, 2005-048 Vale de Santarém, Portugal

^c Cruzvet Medicina e Produção Lda., Rua Padre José Mendes Barreto nº88, 3045-480 Taveiro, Portugal

Resumo

As lentivirose em pequenos ruminantes são uma das principais etiologias de doença crónica nestes animais e têm como principal sinal clínico *Wasting Syndrome*. Estas apresentam um impacto económico significativo e comprometem o bem-estar dos animais da exploração.

Este estudo teve como objetivo avaliar quantitativamente a presença de *Wasting Syndrome* nas explorações de pequenos ruminantes e investigar a sua relação com a positividade a lentivirose. Para isto, foi utilizada uma amostra de conveniência na qual foram identificados todos os animais com *Wasting Syndrome*. Estes foram caracterizados, bem como a sua exploração de origem, através da aplicação de um questionário epidemiológico, e foram testados para verificar a sua seropositividade a lentivirose. Todos os dados obtidos foram sujeitos a análise estatística.

Após a análise dos resultados, verificou-se que a prevalência de *Wasting Syndrome* está fortemente associada à infeção por lentivirose. Observou-se uma associação individual significativa entre a positividade a lentivirose e o conhecimento prévio do estatuto positivo da exploração frente a lentivírus, tipos de manejo reprodutivo e de aleitamento na exploração, o sexo e a espécie dos animais. Verificou-se, também, que existe maior probabilidade ($p < 0,05$) de um animal com *Wasting Syndrome* ser seropositivo a lentivirose se este for um caprino pertencente a uma exploração que pratique cobertura natural e inseminação artificial. Adicionalmente, os sinais clínicos mais comumente observados em animais com *Wasting Syndrome* e seropositivos a lentivirose foram a diminuição da produção de leite e a artrite.

Palavras-chave: *Wasting Syndrome*, Lentivirose, Pequenos Ruminantes, Doença crónica, Controlo e monitorização

Abstract

Lentivirus is one of the main etiologies of chronic disease in small ruminants. Wasting Syndrome is the clinical sign usually present. These have a significant economic impact and compromise the welfare of farm animals.

The present study aimed to quantitatively assess the presence of Wasting Syndrome in small ruminant holdings and investigate its association with positivity to lentivirus. A convenience sample was used, in which all animals with Wasting Syndrome were identified. These were characterized, as well as their exploration of origin, through the application of an epidemiological questionnaire, and were tested to verify their seropositivity to lentivirus. All data was then submitted to statistical analysis.

Results showed that the prevalence of Wasting Syndrome is strongly associated with infection by lentivirus. It was observed a significant individual association between positivity to lentiviruses and the prior knowledge of the positive status of the farm against lentiviruses, types of reproductive management and breastfeeding on the farm, the gender and the species of animals. It was also found that an animal with Wasting Syndrome is more likely to be positive for lentivirus ($p < 0,05$) if it is a goat belonging to a farm that practices natural mating and artificial insemination. In addition, the most common clinical signs in animals with Wasting Syndrome and positive for lentivirus are decreased milk production and arthritis.

Key-words: Wasting Syndrome, Lentivirus, Small Ruminants, Chronic Disease, Control and monitoring

Introdução

A infecção por lentivírus em pequenos ruminantes é responsável por uma das principais doenças crônicas nestes animais. Os mais comuns são o vírus Maedi-Visna, comumente encontrado em ovinos, e o vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV), que surge principalmente em caprinos, embora possa existir infecção cruzada (Gjerset, Rimstad, Teige, Soetaert, & Monceyron, 2009; Spickler, 2015; Thomann et al., 2017). Estes vírus pertencem à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e gênero *Lentivirus* (Giangaspero, Osawa, & Orusa, 2011). A sua transmissão ocorre por via vertical, principalmente através da ingestão de colostro ou leite contaminado, e horizontal, tipicamente associada ao contacto *Nose-to-nose*. Além disso, está descrita a possível transmissão “*in utero*”, por contacto sexual, iatrogénica, por ingestão de água contaminada por excreções ou secreções de animais infetados e por inoculação conjuntival (Gibson, 2015; Herrmann-hoesing, 2010; Kaba et al., 2013; Reina et al., 2011; Singh, Singh, & Kumari, 2018; Spickler, 2015; Thomann et al., 2017; Villoria et al., 2013).

Os lentivírus têm capacidade de infetar monócitos, mas a sua replicação apenas ocorre aquando da sua diferenciação em macrófagos (Arnarson, Pálsson, Gudnadóttir, & Andrésdóttir, 2017; Gjerset et al., 2009). Além disso, têm também tropismo para células dendríticas e apresentam diferentes mecanismos de persistência e patogenicidade (Blacklaws, 2012; Stonos, Wootton, & Karrow, 2014). Embora possa existir uma forte resposta imunitária inata e adquirida, o vírus tem capacidade de promover uma infecção crónica persistente que poderá conduzir à falência de alguns órgãos e à morte do animal (Arnarson et al., 2017; Blacklaws, 2012; Carrozza et al., 2018). Os animais infetados poderão permanecer seronegativos durante vários meses ou anos, período após o qual cerca de 30% dos animais desenvolvem sinais clínicos, dos quais se destaca a perda progressiva de peso (*Wasting Syndrome*) (Carrozza et al., 2018; Giangaspero et al., 2011; Gjerset et al., 2009). Tanto os animais assintomáticos, como os clinicamente doentes, são fontes de infecção para os animais que nunca contactaram com o agente (Larruskain & Jugo, 2013).

Os sinais clínicos mais comuns incluem *Wasting Syndrome*, tumefação do úbere, com aumento de consistência, diminuição da produção de leite, doença respiratória, artrite, claudicação e sinais clínicos neurológicos (Minguijón et al., 2015; Singh et al., 2018; Spickler, 2015). No entanto, o quadro clínico poderá apresentar alguma variabilidade dependendo da espécie, raça, fatores genéticos, sistema de produção, ambiente, práticas de manejo e idade dos animais (Carrozza et al., 2018; Minguijón et al., 2015; Ramírez, Reina, Amorena, Andrés, & Martinez, 2013). De acordo com a produção científica até ao momento, apenas a síndrome respiratória e neurológica têm capacidade de conduzir um animal a um elevado grau de caquexia e morte, em ovinos e caprinos. Não obstante, alterações mamárias e quebra de produção conduzem comumente ao refugo precoce dos animais (Minguijón et al., 2015).

As lentivirose apresentam um impacto económico significativo associado ao refugo prematuro de animais e à sua reposição, limitações à exportação (Spickler, 2015; White & Knowles, 2013), baixo peso ao nascimento e ao desmame, aumento da taxa de mortalidade, diminuição da taxa de conceção e prolificidade (Benavides et al., 2013; Lipecka et al., 2013; Ramírez et al., 2013) e diminuição da produção de leite e da sua qualidade (Nowicka et al., 2015). Não existindo tratamento ou vacina, é

necessário desenvolver estratégias e planos adequados ao controlo e monitorização, baseados no diagnóstico precoce, tipicamente por ELISA indireto em soro, e isolamento de explorações e animais infetados (Andrés et al., 2013; Benavides et al., 2013; Gibson, 2015; Herrmann-hoesing et al., 2010; Pérez et al., 2013; Ramírez et al., 2013). O conhecimento da prevalência da doença é a base da aplicação de estratégias que visem alcançar a erradicação, originando, assim, um retorno positivo ao nível económico e do bem-estar dos animais da exploração (Larruskain & Jugo, 2013; Pérez et al., 2013).

Este estudo tem como objetivo avaliar quantitativamente a presença de *Wasting Syndrome* em explorações de pequenos ruminantes e investigar a sua relação com a positividade a lentivirose. Pretende-se, adicionalmente, determinar a prevalência da infeção nos animais com *Wasting Syndrome*, caracterizá-los bem como as explorações às quais pertencem, e investigar possíveis associações dessas características com a positividade a lentivirose. Pretende-se, por fim, apresentar propostas estratégicas a aplicar no controlo e monitorização das lentivirose, à luz do conhecimento existente e do aqui produzido.

Materiais e Métodos

Este estudo teve por base uma amostra de conveniência obtida durante a realização da componente prática do estágio curricular do Ciclo de Estudos Integrado conducente ao grau Mestre em Medicina Veterinária, que decorreu entre 4 de setembro de 2019 e 4 de março de 2020. Foram incluídas 20 explorações de pequenos ruminantes da zona Centro de Portugal, nas quais se avaliaram todos os animais e se identificaram os animais com *Wasting Syndrome* (“animais caso”). Foi definido como critério para identificação diagnóstica de *Wasting Syndrome* como sendo qualquer animal com perda progressiva de mais de 10% do peso vivo, com pelo menos um mês de duração (Gerrior & Wanke, 2008). Destes, todos os animais com mais de um ano, foram testados para lentivirose, tendo sido feita uma colheita de sangue e registada a identificação do animal (Anexo I). Além disso, foi aplicado um questionário epidemiológico para recolha de dados sobre a exploração e sobre o animal em estudo.

O questionário epidemiológico incluiu 18 itens que permitiram caracterizar as explorações quanto à sua dimensão, espécie(s), raça(s) e idade média dos animais, tipo de exploração (aberta ou fechada), regime de produção, estatuto frente a lentivírus previamente conhecido, tipo de manejo do aleitamento e tipo de manejo reprodutivo. Foram recolhidas informações sobre os “animais caso”, nomeadamente, sexo, idade, espécie, raça, origem, presença de outros sinais clínicos e data do último parto.

As amostras de sangue (4 ml de sangue total em tubo seco) foram encaminhadas para laboratório certificado (Vetdiagnos, Diagnóstico Veterinário, Lda.), para análise serológica através de ELISA indireto. Aplicou-se o teste “IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Verification Test” (IDEXX Laboratories), o qual permite a deteção simultânea de anticorpos contra o vírus Maedi-visna e o vírus da Artrite Encefalite Caprina em amostras de soro individuais de ovelhas e cabras. Este teste foi realizado numa placa de microtitulação com poços revestidos com antígenos controlo (Ag-) e antígenos Maedi-visna/CAEV (Ag+). Depois de realizado o protocolo, foi medida a absorbância com recurso a um

espectrofotômetro. A intensidade da cor está relacionada com a quantidade de anticorpos específicos presentes na amostra. A extinção líquida resulta da subtração da densidade ótica dos poços que contêm -Ag ao valor da densidade ótica dos poços que contêm +Ag, aos quais cada amostra é adicionada. O resultado é obtido ao comparar a extinção líquida da amostra com a do controle positivo. As amostras que obtenham um valor menor ou igual a 110% são consideradas negativas, enquanto se o valor for superior ou igual a 120% são consideradas positivas. Por fim, as amostras cujo valor seja maior que 110% e menor que 120% são consideradas suspeitas. Este teste possui uma especificidade de 99,7% e uma sensibilidade de 97,9% (IDEEX, 2016).

Para a análise estatística, os dados do questionário foram transferidos para Excel (Microsoft Excel 2013) e analisados através do programa SAS® 9.1 (SAS® Institute Inc., Cary, NC, USA) (Copyright® 2019 SAS Institute Inc, 2019)). Assim, para avaliar quantitativamente a presença de *Wasting Syndrome* nas explorações de pequenos ruminantes, determinar a prevalência de infecção por lentivírus nestes animais, e caracterizá-los, bem como às suas explorações de origem, foram aplicadas ferramentas de estatística descritiva, tais como a mediana, média, desvio-padrão e frequências relativas. Além disso, para verificar a existência de associação entre o estatuto dos animais frente a lentivírus e as outras variáveis em estudo (individualmente), foram aplicados vários Testes de Independência com o Qui-quadrado e o Teste Exato de Fisher. Por fim, estimou-se a probabilidade dos animais terem estatuto positivo frente a lentivírus através de regressão logística, inicialmente com um modelo que incluiu os diversos fatores de risco estudados e depois apenas com os que influenciaram significativamente ($p < 0,05$) esta probabilidade. Para estes fatores estimaram-se os rácios de probabilidade (OD - *Odd ratios*) entre os respetivos níveis.

Resultados

Neste estudo foram analisadas 83 amostras de pequenos ruminantes (18 ovinos e 65 caprinos) com *Wasting Syndrome*, colhidas em 20 explorações diferentes, as quais possuem, no total, 4116 animais com mais de seis meses (1986 ovinos e 2130 caprinos). A prevalência global de *Wasting Syndrome*, na amostra populacional de base, foi de 2,02% (3,05% em caprinos e 0,91% em ovinos), tendo a prevalência intra-explorações uma mediana de 2,77% (máximo de 44,74% e mínimo de 0,91%). Através das amostras colhidas ao total de “animais caso”, 64 deles (77,11%) revelaram-se seropositivos a lentivírus e encontravam-se distribuídos por 15 explorações diferentes (75% das explorações em estudo). Das 20 explorações em estudo, apenas duas já haviam sido previamente classificadas como tendo estatuto positivo frente a Lentivírus (uma positiva a CAEV e outra sem diferenciação do género do vírus), as quais mantiveram o estatuto.

Quadro 1 – Caracterização dos animais com *Wasting Syndrome* relativamente às explorações de origem (Anexo II) (Caracterização baseada em Carrozza et al., 2018; Firdaus et al., 2018; Ministério da Agricultura, 2013).

Variáveis		Wasting Syndrome		Seropositivos a lentivírus	
		N.º de animais	Frequência	N.º de animais	Frequência
Classe de exploração	1	0	0%	0	0%
	2	58	69,88%	42	65,63%
	3	23	27,71%	20	31,25%
	Detenção caseira	2	2,41%	2	3,13%
Espécie	Ovinos	8	9,64%	3	4,69%
	Caprinos	55	66,27%	50	78,13%
	Mista	20	24,10%	11	17,19%
Raça ^a	Assaf	14	16,87%	4	6,25%
	Algarvia	1	1,20%	1	1,56%
	Alpina	28	33,73%	24	37,50%
	Serra da Estrela	3	3,61%	1	1,56%
	Cruzada	9	10,84%	1	4,69%
	Cruzada de Ile de France	1	1,20%	0	0%
	Cruzada de Saanen e Alpina	1	1,20%	1	1,56%
	Florida	3	3,61%	2	3,13%
	Lacaune	13	15,66%	9	14,06%
	Murciana	14	16,87%	8	12,50%
	Saanen	49	59,04%	43	67,19%
	Serrana	15	18,07%	10	15,63%
Tipo de exploração	Aberta	79	95,18%	62	96,88%
	Fechada	4	4,82%	2	3,13%
Regime de produção	Intensivo	44	43,01%	37	57,81%
	Semi-intensivo	34	40,96%	25	39,06%
	Semi-extensivo	4	4,82%	2	3,13%
	Extensivo	1	1,20%	0	0%
Classes de idade média dos animais	[1;3] anos	43	51,81%	35	54,69%
	>3 anos	40	48,19%	29	45,31%
Estatuto frente a lentivírus	Desconhecido	57	68,67%	38	59,38%
	Positivo	17	20,48%	17	26,56%
	Positivo – CAEV	9	10,84%	9	14,06%

previamente conhecido	Positivo – Maedi-visna	0	0%	0	0%
	Negativo	0	0%	0	0%
Tipo de Aleitamento	Natural	43	51,81%	30	46,88%
	Artificial	40	48,19%	34	53,13%
Manejo reprodutivo	Cobrição natural	45	54,22%	29	45,31%
	Inseminação artificial	0	0%	0	0%
	Cobrição natural e Inseminação artificial	38	45,78%	35	54,69%

^a Em 11 explorações (55%) foram observadas mais que uma raça, pelo que o número de observações é superior ao número de “animais caso” (Anexo III).

As explorações com maior número de animais com *Wasting Syndrome* são de caprinos, de Classe-2 (com uma mediana de 265 animais), principalmente de raça Saanen ou Alpina, explorações abertas (atendendo apenas à informação dos últimos quatro anos), com regime de produção intensivo ou semi-intensivo, aleitamento natural, cobrição natural e animais com idades compreendidas entre um e três anos. Destas explorações, a maioria apresentava previamente um estatuto desconhecido frente a lentivírus. Estas características são também comuns às explorações que apresentam maior número de animais seropositivos a lentivírus, dos animais em estudo (com *Wasting Syndrome*), exceto no que respeita ao tipo de manejo de aleitamento e manejo reprodutivo (a maioria dos animais seropositivos a lentivírose pertence a explorações com aleitamento artificial e onde se pratica cobrição natural e inseminação artificial). Das explorações com Estatuto frente a lentivírus já conhecido enquanto positivo, todos os animais com *Wasting Syndrome* obtiveram um resultado seropositivo (Quad. 1).

Quadro 2 - Caracterização dos animais com *Wasting Syndrome* (Caracterização baseada em Carrozza et al., 2018; Czopowicz et al., 2017; Firdaus et al., 2018; Minguijón et al., 2015; Singh et al., 2018; Spickler, 2015).

Variáveis		<i>Wasting Syndrome</i>		Seropositivos a lentivírus	
		N.º Animais	Frequência	N.º Animais	Frequência
Sexo	Fêmea	78	93,98%	62	96,88%
	Macho	5	6,02%	2	3,13%
Idade]1;3] anos	38	45,78%	28	43,75%
]3;6] anos	35	42,17%	28	43,75%
	>6 anos	10	12,05%	8	12,5%
Espécie	Ovino	18	21,69%	9	14,06%
	Caprino	65	78,31%	55	85,94%
Raça	Assaf	4	4,82%	2	3,13%
	Alpina	12	14,46%	11	17,19%

	Serra da Estrela	3	3,61%	1	1,56%
	Cruzada	1	1,20%	0	0%
	Cruzada de Saanen e Alpina	1	1,20%	1	1,56%
	Florida	1	1,20%	0	0%
	Lacaune	10	12,05%	6	9,38%
	Murciana	1	1,20%	1	1,56%
	Saanen	44	52,38%	41	64,06%
	Serrana	6	7,23%	1	1,56%
Exploração de Origem	Própria Exploração	51	61,45%	42	65,63%
	Outra Exploração	32	38,55%	22	34,38%
Outros Sinais Clínicos ^b	Aumento da consistência do úbere ^a	13	15,66%	10	16,13%
	Diminuição da produção de leite ^a	36	43,37%	28	45,16%
	Doença respiratória	14	16,87%	11	17,19%
	Artrite	24	28,92%	18	28,13%
	Claudicação	7	8,43%	6	9,38%
	Sinais Clínicos Neurológicos	0	0%	0	0%
	Diarreia	3	3,61%	3	4,69%
	Abcessos	5	6,02%	5	7,81%
	Outros sinais clínicos	3	3,61%	3	4,69%
Último parto ^c	≤1 mês	9	10,84%	6	10,53%
	>1 mês	63	75,90%	51	89,47%
Estatuto do animal frente a lentivírus	Positivo	64	77,11%	-	-
	Negativo	19	22,89%	-	-

^a Parâmetro não aplicável a machos.

^b Em 30 “animais caso” (36,14%) foram observados, além de *Wasting Syndrome*, mais que um sinal clínico, pelo que o número de observações é superior ao número de “animais caso” (Anexo IV).

^c Parâmetro não aplicável a machos nem a nulíparas.

A maioria dos animais observados com *Wasting Syndrome* foram caprinos, fêmeas, com idades compreendidas entre um e três anos, de raça Saanen e com origem na própria exploração. Os sinais clínicos associados mais comuns nestes animais são a diminuição da produção de leite e a artrite, seguidos do aumento da consistência do úbere e a presença de doença respiratória. A presença de outros sinais clínicos não enunciados é rara, mas foi verificada em 3,61% dos animais. Estes estão associados a aborto, uveíte e conjuntivite. Por fim, 77,11% dos animais apresentaram positividade frente a lentivírus, tendo a leitura do ELISA um valor médio de 344,15% e um desvio-padrão de 121,92% (seropositivo >120%) (Quad.2).

Através dos Testes de Independência do Qui-Quadrado, os quais pretendiam verificar a possível existência de associação entre o estatuto do animal frente a lentivírus e as diversas variáveis avaliadas (individualmente), verificou-se a existência de algumas associações estatisticamente significativas. Nomeadamente, entre o estatuto do animal e o estatuto positivo da exploração previamente conhecido frente a lentivírus ($p < 0,01$) (dos animais seropositivos, 40,12% pertenciam a explorações já conhecidas como positivas a lentivirose), o estatuto e a espécie do animal ($p < 0,01$) (85,94% dos animais seropositivos são caprinos) e o estatuto do animal e o manejo reprodutivo na exploração ($p < 0,01$) (54,69% dos animais seropositivos pertencem a explorações onde é praticada cobertura natural e inseminação artificial). Verificou-se, também, uma associação significativa, mas menor, entre o estatuto e o sexo do animal ($p = 0,076$) (96,88% dos animais seropositivos são fêmeas), e ainda entre o estatuto do animal e o tipo de manejo do aleitamento na exploração ($p = 0,099$) (53,14% dos animais seropositivos pertencem a explorações em que o aleitamento é feito artificialmente).

De seguida, foi modelada a probabilidade dos animais terem estatuto positivo frente a lentivírus, por regressão logística, inicialmente através de um modelo que incluiu em simultâneo os diversos fatores de risco estudados, observando-se que alguns destes fatores, quando considerados em conjunto, não influenciam significativamente ($p > 0,05$) a positividade a lentivirose. O modelo de análise final incluiu, então, apenas os fatores que influenciaram significativamente a probabilidade de os animais terem estatuto positivo, nomeadamente, a espécie do animal e o manejo reprodutivo da exploração (ambos, para $p = 0,014$). Posteriormente, estimaram-se os rácios de probabilidade para estes fatores, tendo sido obtido OR=4,581 no caso da espécie do animal (caprinos vs ovinos) e OR=5,529 para o manejo reprodutivo da exploração (inseminação artificial vs cobertura natural).

Discussão dos resultados

A perda progressiva de peso (*Wasting Syndrome*) é um dos sinais clínicos mais comuns em infeções por lentivírus, mas também em situações de má nutrição crónica, Paratuberculose, Linfadenite Caseosa e Parasitoses Internas (Cecchi et al., 2019; Hamid, Mohammed, Bakhet, & Saeed, 2018; Islam & Taimur, 2008; Umer et al., 2017). Neste estudo, a prevalência de *Wasting Syndrome* intra-exploração, foi em média de 6,80%, tendo-se verificado que 5,24% dos animais com *Wasting Syndrome*, no total dos animais de cada exploração em estudo, eram seropositivos a Lentivirose. Assim, para os “animais caso” (83) verificou-se uma positividade a lentivírus de 77,11% (cerca de oito em cada dez animais com *Wasting Syndrome* é seropositivo a Lentivirose).

Neste estudo não foram testados animais jovens (com menos de um ano), pois existiria o risco de estarem ainda presentes anticorpos maternos (pelo menos até aos dois a três meses de vida) ou de ainda não existir seroconversão (entre os seis meses e um ano) (Czopowicz et al., 2017; Giangaspero et al., 2011; Ramírez et al., 2013). Por outro lado, também o diagnóstico a seguir ao parto (até um mês) poderá levantar algumas dúvidas, pois há uma chamada de anticorpos para o colostro e um comprometimento da imunidade humoral, que poderá conduzir à seronegatividade de um animal infetado (Falso Negativo) (Czopowicz et al., 2017; Ramírez et al., 2013). Assim, neste estudo foram testados nove animais com parto há menos de um mês, sendo que se obtiveram três resultados negativos (leitura do ELISA média de 42,83% (desvio-padrão=23,88%)). Existindo hipótese de se tratarem de falsos negativos, dever-se-iam testar novamente.

A maioria das explorações onde foram identificados “animais caso” e onde se obteve um maior número de animais seropositivos a Lentivirose são explorações de caprinos, de classe-2 (embora a prevalência de seropositivos nos “animais caso” seja superior em explorações de classe-3), abertas, em regime intensivo e com idade média entre um e três anos. Considerando que neste estudo é utilizada uma amostra de conveniência, estes resultados estarão associados ao facto de estas serem as características da maioria das explorações visitadas, o que poderá ser uma limitação ao estudo. Apesar disso, os dados parecem indicar que a infeção por lentivírus é mais prevalente em rebanhos de maiores dimensões, em regime intensivo e nos quais foram introduzidos animais de outras explorações (Gibson, 2015; Kaba et al., 2013; Lipecka et al., 2013). Verificamos também que a maioria das explorações com *Wasting Syndrome* e positividade a lentivirose são explorações que possuem animais de raça Saanen e que esta é a raça predominante nos “animais caso” e nos seropositivos a lentivírus. Isto dever-se-á não só ao facto de ser uma característica comum na amostra de conveniência, mas também à maior sensibilidade da raça a lentivirose (Carrozza et al., 2018; Larruskain & Jugo, 2013). Assim, neste trabalho verificou-se que a probabilidade de um animal de raça Saanen ser seropositivo a lentivirose é 6,832 vezes superior que a dos animais das restantes raças de caprinos (OR=6,832).

Quanto ao estatuto positivo, previamente conhecido, de duas das explorações positivas a lentivirose, verificou-se que todos os indivíduos identificados como “animais caso” obtiveram um resultado seropositivo neste estudo e que houve, também, uma associação estatisticamente significativa ($p<0,01$) entre a positividade prévia da exploração e a positividade a lentivirose. Assim sendo, verificamos que este deverá ser um diagnóstico diferencial de *Wasting Syndrome* a valorizar em explorações onde é conhecida a presença da infeção.

O tipo de manejo do aleitamento apresentou uma tendência distinta entre os “animais caso” e os animais seropositivos. Verificou-se que a maioria dos “animais caso” pertenciam a explorações onde o aleitamento era natural. Contrariamente, os animais seropositivos a lentivirose pertenciam maioritariamente a explorações com aleitamento artificial. Verificou-se, ainda, a existência de uma associação estatisticamente significativa entre as variáveis “Estatuto do animal frente a lentivírus” e “Tipo de Aleitamento”. Isto surge em contradição ao suposto, pois existindo aleitamento artificial esperar-se-ia que o risco de infeção fosse menor (estariamos a eliminar a fonte de transmissão

associada à ingestão de leite materno). No entanto, não sabemos como é feito o encolostramento dos animais, sendo este também um fator de risco quando feito naturalmente ou com colostro de animais infectados (Singh et al., 2018; Thomann et al., 2017).

Relativamente ao manejo reprodutivo verificou-se que os “animais caso” pertenciam essencialmente a explorações onde era praticada cobrição natural e que os animais seropositivos a lentivirose pertenciam a explorações onde era praticada cobrição natural e inseminação artificial. Além disso, verificou-se a existência de associação significativa ($p < 0,01$) entre o “Estatuto do animal frente a lentivírus” e o “Manejo reprodutivo”. Assim sendo, é colocada em questão a possibilidade de transmissão do vírus através de inseminação artificial, sobre a qual ainda não existe consenso (Gibson, 2015; Kaba et al., 2013; Reina et al., 2011; Singh et al., 2018). Para evitar qualquer risco dever-se-á, então, utilizar para reprodução apenas machos negativos a lentivirose (Minguijón et al., 2015). Além da possibilidade de se praticar cobrição natural e/ou inseminação artificial, os animais poderão teraios sincronizados ou não. Quando não existe qualquer tipo de sincronização deaios, o ratio macho:fêmea deverá estar entre 1:25 e 1:40. Por outro lado, quando existe sincronização deaios aumenta para valores entre 1:6 e 1:25 (Cavaco-Gonçalves, Baptista, & Barbas, 2017; Menzies, 2007). No entanto, em qualquer das situações, o número de fêmeas é sempre muito superior ao número de machos em explorações de pequenos ruminantes. Isto justifica o facto de o número de fêmeas identificadas com *Wasting Syndrome* e positivas a lentivirose ser muito superior ao número de machos. Além disso, verificou-se a existência de associação ($p = 0,076$) entre o estatuto frente a lentivirose do animal e o sexo, o que será justificável pelo facto de o sexo também ser descrito como um fator de risco (Firdaus et al., 2018).

Quanto à idade dos “animais caso”, verificou-se que a maioria se encontra entre um e três anos, pois esta também é a idade média dos animais das explorações em estudo mais prevalente. Apesar disso, verificou-se que dos “animais caso” com idades entre três e seis anos e com mais de seis anos, 80% foram seropositivos a lentivirose. Por outro lado, nos animais com idades entre um e três anos verificou-se uma positividade a lentivirose de 74%. Embora a diferença percentual seja relativamente reduzida, confirmou-se que os animais mais velhos são mais afetados (Giangaspero et al., 2011).

Os caprinos foram a espécie mais prevalente, tanto nos “animais caso”, como nos animais seropositivos a lentivirose. Foi também identificada uma associação significativa ($p < 0,01$) entre as variáveis “Estatuto do animal frente a lentivírus” e “Espécie”. Isto estará não só associado ao facto de o número de caprinos na amostra populacional ser superior, mas também com a diferença de suscetibilidade entre espécies (Carrozza et al., 2018). Além disso, existe maior prevalência nos animais em estudo que são oriundos da própria exploração, o que poderá estar associado à presença de um maior número de animais com estas características na exploração e ao elevado número de vias de transmissão ativas dentro da exploração.

Relativamente à presença de outros sinais clínicos nos animais com *Wasting Syndrome*, verificou-se que os mais frequentes foram a diminuição da produção de leite e a artrite, tal como aconteceu nos animais seropositivos a lentivirose. No caso da diminuição de produção de leite verificou-se que 77,78% dos “animais caso” foram seropositivos a lentivirose e que a positividade no caso dos

animais com artrite foi de 75%. Para outros sinais clínicos comuns a animais com lentivirose, tais como a consistência do úbere aumentada (76,92%), doença respiratória (78,6%) e claudicação (85,71%), a prevalência nos “animais caso” também foi elevada. Não foram identificados animais com sinais clínicos neurológicos (Minguijón et al., 2015; Singh et al., 2018; Spickler, 2015). Por outro lado, animais com *Wasting Syndrome* e presença de abscessos (sinal clínico comum de Linfadenite Caseosa (Umer et al., 2017)) ou diarreia (sinal clínico comum de Paratuberculose (Cecchi et al., 2019)) ou ainda outros sinais clínicos, foram todos seropositivos a lentivirose.

Nos testes de independência estatística verificou-se a associação dos fatores espécie do animal e manejo reprodutivo da exploração com o estatuto do animal frente a lentivírus, pelo que existirá maior probabilidade de um animal com *Wasting Syndrome* ser seropositivo a lentivirose se for um caprino e na sua exploração de origem existir um manejo reprodutivo em que se pratique cobrição natural e inseminação artificial. Relativamente aos rácios de probabilidade para estes fatores verificamos que a probabilidade de uma cabra ser positiva é 5,529 [1,367;15,346] vezes superior à de uma ovelha, e que um animal pertencente a uma exploração que pratique cobrição natural e inseminação artificial tem uma probabilidade de ser seropositivo a lentivirose 5,529 [1,409;21,704] vezes superior a outro que pertença a uma exploração onde só se pratique cobrição natural.

As lentivirose são capazes de limitar a produção e o bem-estar dos animais, podendo ser a forte fonte de perdas económicas para os produtores (Larruskain & Jugo, 2013; Stonos et al., 2014). A maior prevalência está comumente associada a explorações abertas, em que os animais se encontram confinados, com reduzida ventilação e elevada densidade, e com um efetivo envelhecido (Minguijón et al., 2015). Assim, o controlo das lentivirose é extremamente importante e poderá ter maior eficácia se for baseado na aplicação de um teste serológico e no abate dos animais identificados enquanto seropositivos (Larruskain & Jugo, 2013; Minguijón et al., 2015). No entanto, como em algumas explorações a prevalência pode ser demasiadamente elevada, a capacidade económica para a aplicação deste tipo de medidas poderá ser limitada. Assim, dever-se-ão aplicar outro tipo de estratégias, tais como a utilização de raças resistentes à infeção, separação dos animais infetados dos não infetados (os animais infetados deverão ser os últimos a serem ordenhados, não deverá haver partilha de equipamentos,...), separação dos recém-nascidos à nascença e administração de colostro e leite não infetado, utilização de machos reprodutores negativos, manutenção da higiene dos bebedouros, não reutilização de agulhas ou seringas e implementação de restrições de movimentação (apenas permitir a entrada de animais negativos na exploração,...) (Larruskain & Jugo, 2013; Minguijón et al., 2015; Pérez et al., 2013; Spickler, 2015).

Conclusões

Neste trabalho, a prevalência de animais com *Wasting Syndrome* esteve fortemente associada à infeção por lentivirose e é mais comum em explorações de caprinos, tipicamente abertas, de média a grande dimensão, nas quais os animais se encontram confinados e apresentam idades entre um e três anos. Os sinais clínicos mais comuns em animais com *Wasting Syndrome* e seropositivos a lentivirose são a diminuição da produção de leite e a artrite, embora seja possível encontrar, em

animais seropositivos, sinais clínicos que não se encontram descritos na bibliografia. Apesar disso, não existe associação estatisticamente significativa entre a presença de outros sinais clínicos e a positividade a lentivirose, pelo que a probabilidade de um animal com *Wasting Syndrome* ser seropositivo não depende da presença destes outros sinais clínicos.

A existência de animais seropositivos a lentivirose é mais provável em explorações que pratiquem cobrição natural e inseminação artificial, pelo que não é de descorar a hipótese de transmissão por estas vias. Também é mais provável a existência de animais seropositivos a lentivirose em explorações com aleitamento artificial, pelo que, se deve considerar a hipótese de transmissão pelo colostro.

Quanto ao estatuto positivo frente a lentivírus da exploração previamente conhecido, este remete-nos para uma maior probabilidade de os animais com *Wasting Syndrome* serem seropositivos a lentivírus, particularmente se caprinos ou fêmeas. Por fim, existe maior probabilidade de um animal com *Wasting Syndrome* ser seropositivo a lentivirose se for um caprino pertencente a uma exploração que pratique cobrição natural e inseminação artificial.

Em estudos futuros, dever-se-á quantificar o impacto da diminuição da produtividade em explorações com animais seropositivos, clarificar as diferentes sensibilidades raciais, nomeadamente, das raças autóctones Portuguesas, perceber durante quanto tempo periparto os animais poderão originar falsos negativos, tal como os animais jovens, e verificar a possível existência de coinfeção de lentivírus e outros agentes (principalmente da Paratuberculose e Linfadenite Caseosa).

Agradecimentos

Aos meus orientadores internos, Prof. Dr. Nuno Carolino e Prof.^a Elisabete Martins, por toda a disponibilidade, apoio e acompanhamento durante a realização deste trabalho.

Ao meu orientador externo, Prof. Carlos Cruz, a quem dirijo um agradecimento muito especial pela oportunidade, pelos conhecimentos partilhados, pelo profissionalismo, competência, e pela sua amizade. Obrigada por me ter ajudado a crescer a nível profissional e pessoal.

Ao Sr. Carlos Fernandes, que me acompanhou em algumas das tarefas realizadas durante o meu estágio curricular e a realização deste trabalho, pela sua ajuda e boa disposição contagiante.

Ao Vítor Camões, que me acompanhou em grande parte do meu estágio, à Filipa Araújo e à Joana Jesus, e a todos os outros colegas de curso que me acompanharam durante este percurso.

A todos os produtores que me receberam nas suas explorações e que contribuíram para a minha formação.

Aos meus pais por todo o apoio incondicional e por nunca desistirem de mim, e ao meu irmão pela amizade.

Ao Diogo Cantante por estar sempre presente e me apoiar em todos os momentos.

Referências bibliográficas

- Andrés, X. De, Ramírez, H., Bertolotti, L., Román, B. S., Glaria, I., Crespo, H., Jáuregui, P., Minguijón, E., Juste, R., Leginogoikoa, I., Pérez, M., Luján, L., Badiola, J., Polledo, L., García-Marín, J., Riezu, J., Borrás-Cuesta, F., Andrés, D., Rosati, S., Reina, R., Amorena, B. (2013). An insight into a combination of ELISA strategies to diagnose small ruminant lentivirus infections. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 152(3–4), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.12.017>
- Arnarson, H., Pálsson, A., Gudnadóttir, M., & Andrésdóttir, V. (2017). Comparative Immunology , Microbiology and Infectious Diseases Maedi-visna virus persistence: Antigenic variation and latency. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 55(August), 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.08.003>
- Benavides, J., Fuertes, M., García-pariente, C., Otaola, J., Delgado, L., Giraldez, J., Marín, J., Ferreras, M., Pérez, V. (2013). Impact of maedi-visna in intensively managed dairy sheep. *The Veterinary Journal*, 197(3), 607–612. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.03.031>
- Blacklaws, B. A. (2012). Small ruminant lentiviruses : Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(3), 259–269. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.12.003>
- Carrozza, M.-L., Niewiadomska, A.-M., Mazzei, M., AbiSaid, M. R., Hué, S., Singer, J. B., Hughes, J., Gifford, R. J. (2018). An investigation into the origins and history of pandemic small ruminant lentivirus infection. *BioRxiv*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1101/236117>.
- Cavaco-Gonçalves, S., Baptista, M. da C., & Barbas, J. P. (2017). Controlo da reprodução como instrumento de rentabilidade das explorações de pequenos ruminantes. *Vida Rural*, 30–32.
- Cecchi, F., Fratini, F., Cerri, D., Bandecchi, P., Cantile, C., & Mazzei, M. (2019). Small ruminant lentivirus and Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: co-infection prevalence and preliminary investigation on genetic resistance to both infections in a Garfagnina goat flock. *Large Animal Review*, 25, 89–92.
- Copyright© 2019 SAS Institute Inc. (2019). SAS Institute Inc. USA.
- Czopowicz, M., Szalu, O., Moroz, A., Markowska-daniel, I., Reczy, D., & Bagnicka, E. (2017). Fall in antibody titer to small ruminant lentivirus in the periparturient period in goats. *Small Ruminant Research*, 147, 37–40. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.12.006>
- Firdaus, F., Jesse, A., Bitrus, A. A., Abba, Y., Raju, V. N., & Hambali, I. U. (2018). Seroprevalence of small ruminant caprine arthritis encephalitis lentivirus among goats from selected small ruminant farms in Selangor , 11, 172–176. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.172-176>
- Gerrior, J., & Wanke, C. (2008). Nutrition and Immunodeficiency Syndrome. *Nutrition in the Prevention and Tratment Disease*.
- Giangaspero, M., Osawa, T., & Orusa, R. (2011). Epidemiological survey for visna - maedi among sheep in northern prefectures of Japan. *Veterinaria Italiana*, 47(4), 437–451.
- Gibson, L. (2015). Maedi visna virus infection: where are we now? *Livestock*, 20(1), 40–44. <https://doi.org/https://doi.org/10.12968/live.2015.20.1.40> Ver Artigo

- Gjerset, B., Rimstad, E., Teige, J., Soetaert, K., & Monceyron, C. (2009). Impact of natural sheep – goat transmission on detection and control of small ruminant lentivirus group C infections. *Veterinary Microbiology*, 135, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.069>
- Hamid, M. A. I., Mohammed, G. E. E., Bakhiet, A. O., & Saeed, E. M. A. (2018). Histopathological and RT-PCR Detection of Mycobacterium paratuberculosis in Tissues of Clinically Suspected Small Ruminants. *INTERNATIONAL JOURNAL OF LIFE-SCIENCES SCIENTIFIC RESEARCH*, 04(05), 2012–2018. <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2018.4.5.8>
- Herrmann-hoesing, L. M. (2010). Diagnostic assays used to control small ruminant lentiviruses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 855, 843–855.
- Herrmann-hoesing, L. M., Broughton-neiswanger, L. E., Gouine, K. C., White, S. N., Mousel, M. R., Lewis, G. S., Marshall, K., Knowles, D. P. (2010). Evaluation of a Caprine Arthritis-Encephalitis Virus / Maedi-Visna Virus Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the Serological Diagnosis of Ovine Progressive Pneumonia Virus in U. S. Sheep. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(2), 307–310. <https://doi.org/10.1128/CVI.00349-09>
- IDEEEX. (2016). *IDEEEX MVV / CAEV p28 Ab Screening and Verification Tests*.
- Islam, K. B. M. S., & Taimur, M. J. F. A. (2008). Helminthic and protozoan internal parasitic infections in free ranging small ruminants of Bangladesh. *Slovenian Veterinary Research*, 45(2), 67–72.
- Kaba, J., Czopowicz, M., Ganter, M., Nowicki, M., Witkowski, L., Nowicka, D., & Szalus, O. (2013). Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds. *Research in Veterinary Science*, 94, 225–227. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.09.018>
- Larruskain, A., & Jugo, B. M. (2013). Retroviral Infections in Sheep and Goats: Small Ruminant Lentiviruses and Host Interaction. *Viruses*, 5, 2043–2061. <https://doi.org/10.3390/v5082043>
- Lipecka, C., Junkuszew, A., Kuzmak, J., Gruszecki, T. M., Kozaczyńska, B., Olech, M., Bojar, W., Osiński, Z. (2013). Influence of small ruminant lentivirus infection on reproductive traits in ewes. *Versita*, 57, 15–18. <https://doi.org/10.2478/bvip-2013-0003>
- Menzies, P. I. (2007). Reproductive Health Management Programs. In *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2^a, pp. 701–714).
- Minguijón, E., Reina, R., Pérez, M., Polledo, L., Villoria, M., Ramírez, H., Leginagoikoa, I., Badiola, J. J., García-Marín, J., Andrés, D., Luján, L., Amorena, B., Juste, R. (2015). Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Veterinary Microbiology*, 1974. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.08.007>
- Ministério da Agricultura, do D. R. e das P. Decreto-Lei nº81/2013 (2013). Portugal.
- Nowicka, D., Czopowicz, M., Bagnicka, E., Rzewuska, M., Strzalkowska, N., & Kaba, J. (2015). Influence of small ruminant lentivirus infection on cheese yield in goats. *Journal of Dairy Research*, 82, 102–106. <https://doi.org/10.1017/S0022029914000727>
- Pérez, M., Muñoz, J. A., Biescas, E., Salazar, E., Bolea, R., Andrés, D. de, Amorena, B., Badiola, J. J., Reina, R., Luján, L. (2013). Successful Visna / maedi control in a highly infected ovine dairy flock using serologic segregation and management strategies. *Preventive Veterinary Medicine*, 112, 423–427. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.07.019>

- Ramírez, H., Reina, R., Amorena, B., Andrés, D. de, & Martinez, H. A. (2013). Small Ruminant Lentiviruses: Genetic Variability, Tropism and Diagnosis. *Viruses*, 5, 1175–1207. <https://doi.org/10.3390/v5041175>
- Reina, R., Glaria, I., Cianca, S., Crespo, H., Andrés, X. De, Goñi, C., Lasarte, J. M., Luján, L., Amorena, B., Andrés, D. F. De. (2011). Use of small ruminant lentivirus-infected rams for artificial insemination. *The Veterinary Journal*, 189, 106–107. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.07.001>
- Singh, R., Singh, R., & Kumari, S. (2018). Seroprevalence study of small ruminant lentivirus infection in Indian sheep and goats. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 1480–1481.
- Spickler, A. R. (2015). Small Ruminant Lentiviruses : Caprine Arthritis and Encephalitis Small Ruminant Lentiviruses. *The Center for Food Security & Public Health*, 1–8.
- Stonos, N., Wootton, S. K., & Karrow, N. (2014). Immunogenetics of Small Ruminant Lentiviral Infections. *Viruses*, (Mv), 3311–3333. <https://doi.org/10.3390/v6083311>
- Thomann, B., Falzon, L. C., Bertoni, G., Vogt, H. R., Schüpbach-regula, G., Magouras, I., & Elisa, S. U. (2017). A census to determine the prevalence and risk factors for caprine arthritis-encephalitis virus and visna / maedi virus in the Swiss goat population. *Preventive Veterinary Medicine*, 137, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.012>
- Umer, M., Abba, Y., Abdullah, F. F. J., Saleh, M. M., Haron, A. W., Saharee, A. A., Ariff, A. B., Baiee, F. H. A., Hambali, I. U., Sharif, A. (2017). Caseous lymphadenitis in small ruminants : An overview on reproductive implications. *Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, 2(April), 23–31.
- Villoria, M., Leginagoikoa, I., Luján, L., Pérez, M., Salazar, E., Berriatua, E., Juste, R. A., Minguijón, E. (2013). Detection of Small Ruminant Lentivirus in environmental samples of air and water. *Small Ruminant Research*, 110(2–3), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.025>
- White, S. N., & Knowles, D. P. (2013). Expanding Possibilities for Intervention against Small Ruminant Lentiviruses through Genetic Marker-Assisted Selective Breeding. *Viruses*, 5, 1466–1499. <https://doi.org/10.3390/v5061466>

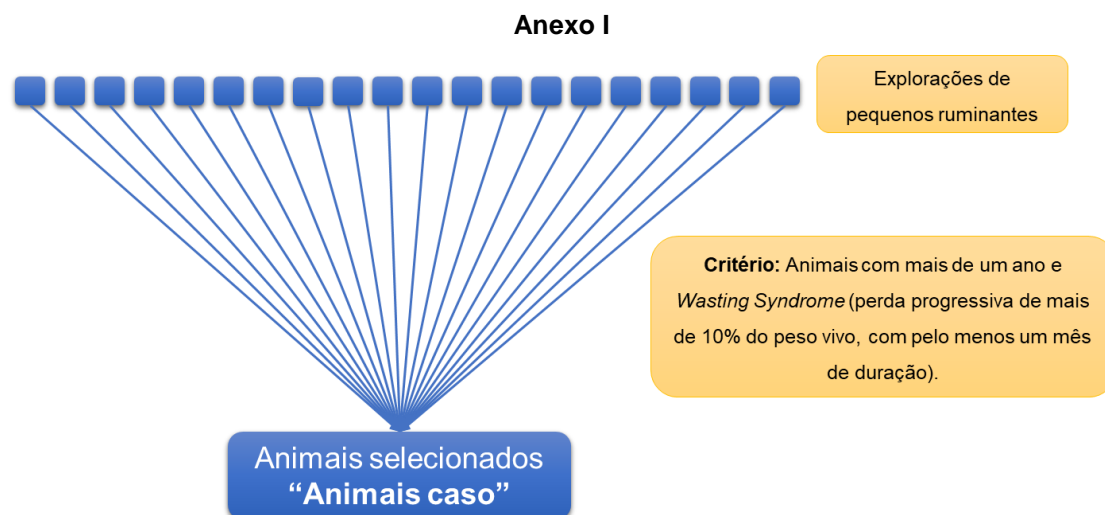


Figura 1 – Metodologia utilizada na seleção da amostra de conveniência.

Anexo II

Quadro 3 - Classes de Exploração (CN – Cabeças Normais) (Adaptado de Ministério da Agricultura, 2013).

Classe de exploração	Sistemas de exploração	Pequenos Ruminantes
1	Intensivo	>260 CN
2	Intensivo	15<CN≤260
	Extensivo	>15 CN
3	Todos	≤15 CN
Detenção Caseira	Todos	6 Animais

Quadro 4 - Equivalência do número de animais em Cabeças Normais (Adaptado de Ministério da Agricultura, 2013).

Espécie e tipo de animal	CN
<u>Pequenos Ruminantes</u>	
Ovino/caprino adulto (com mais de 12 meses)	0,15
Ovino/caprino adulto em produção intensiva de leite	0,20
Ovino/caprino – jovem reprodutor (6 a 12 meses)	0,07

Anexo III

Quadro 5 - Distribuição das raças, de acordo com a espécie, nas explorações em estudo.

Espécie	Raças	N.º de explorações
Ovinos	Uma raça	3
	Várias raças	1
Caprino	Uma raça	4
	Várias raças	6

Mista	Uma raça de cada espécie	2
	Várias raças em pelo menos uma espécie	4

Anexo IV

Quadro 6 - Sinais clínicos identificados nos “animais caso”.

Sinais clínicos		N.º de animais
Sem outros sinais clínicos		19
Consistência do úbere aumentada	Sem outros sinais clínicos	1
	Com diminuição da produção de leite	6
	Com diminuição da produção de leite e doença respiratória	3
	Com doença respiratória	1
Diminuição da produção de leite	Sem outros sinais clínicos	13
	Com doença respiratória	3
	Com doença respiratória e artrite	2
	Com artrite	3
	Com artrite e claudicação	1
	Com diarreia	1
	Com abscessos	2
	Com outros sinais clínicos	1
Doença respiratória	Sem outros sinais clínicos	5
Artrite	Sem outros sinais clínicos	11
	Com claudicação	4
	Com outros sinais clínicos	1
Claudicação	Sem outros sinais clínicos	1
Diarreia	Sem outros sinais clínicos	1
	Com outros sinais clínicos	2
Abscessos	Sem outros sinais clínicos	3